Analyse und Manipulation von Nukleinsäuren; Eigenschaften von Enzymen

Aufgaben

1 Die moderne Biochemie stellt eine Vielzahl von aussagekräftigen Methoden zur Untersuchung von Nukleinsäuren zur Verfügung. Die Entwicklung automatisierter Techniken, die eine zuverlässige Identifizierung, rasche Vervielfältigung und nahezu beliebige Umstrukturierung von Nukleinsäuren erlauben, führt zur Erweiterung und Verfeinerung des molekulargenetischen Methodenspektrums und hat die Forschung im biomedizinischen Bereich von Grund auf erneuert.

1.1 Erläutern Sie den Aufbau und die Struktur eines DNA-Moleküls.

(10 BE)

1.2 In Material 1 wird die DNA-Replikation von Eukaryoten beschrieben.
Formulieren Sie zu den nichtzutreffenden Textpassagen die korrekten Aussagen und listen Sie in einer Tabelle alle an der Replikation beteiligten Enzyme jeweils mit ihrer Funktion auf.

(10 BE)

1.3 Mithilfe molekulargenetischer Techniken soll eine Restriktionskarte von einem 12 Kilobasen (kb)-Fragment einer bakteriellen DNA erstellt werden. Zunächst wurde das Fragment mit einer Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction; PCR) vervielfacht und anschließend mit den Restriktionsenzymen Hind III und BamH I geschnitten. Mit einer Agarosegelelektrophorese wurden die Fragmente vereinzelt.

1.3.1 Vergleichen Sie tabellarisch die in vivo DNA-Replikation mit einer PCR.

(8 BE)

1.3.2 Zeichnen Sie in der in Material 2 angegebenen Sequenz die längste palindromische Schnittstelle für ein Restriktionsenzym ein. Begründen Sie ihre Antwort.

(4 BE)

1.3.3 Material 3 zeigt die Restriktionskartierung.
Zeigen Sie die relative Abfolge der einzelnen Fragmente in der Original-DNA und die Schnittstellen auf.

(6 BE)

1.4 Die Restriktionskartierung einer DNA liefert ein grobes Bild vom Aufbau eines Gens. Allerdings benötigt die Wissenschaft für viele Fragestellungen die exakte Basenabfolge. Erläutern Sie die Abbildung 4.1, sodass der dargestellte Vorgang (Ziffern 1 bis 8) deutlich wird. Erklären Sie auch die Tatsache, dass der Einsatz von Didesoxynukleotiden (ddNTP) bei der Kettenverlängerung durch die DNA-Polymerase zu Kettenabbrüchen führt.

Hinweis: Nutzen Sie zur Erläuterung der Abbildung 4.1 ebenfalls die Abbildungen 4.2 und 4.3.

(12 BE)

2 Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist ein starkes Zellgift. Im Körper wird es schnell abgebaut, wenn es bei Stoffwechselprozessen entsteht.
In Material 5 werden drei Experimente zur Zersetzung von Wasserstoffperoxid beschrieben.

2.1 Deuten Sie die Ergebnisse der Versuche (Material 5) und skizzieren Sie Energiediagramme für alle drei Reaktionen.

(12 BE)

2.2 Alle drei Versuchsansätze werden mit einer mit Bleinitrat versetzten Wasserstoffperoxidlösung durchgeführt.
Zeigen Sie die zu erwartenden Versuchsergebnisse auf und begründen Sie diese.

(6 BE)

2.3 Auch Kartoffeln enthalten Katalase. Tropft man auf eine angeschnittene rohe Kartoffel Wasserstoffperoxid, so bilden sich auf der Oberfläche Bläschen, führt man den Versuch mit einer gekochten Kartoffel durch, passiert nichts.

2.3.1 Erklären Sie diese Reaktionen.

(2 BE)

2.3.2 Formulieren Sie das Versuchsergebnis, wenn man auf die rohe Kartoffel noch einmal Wasserstoffperoxid träufelt und begründen Sie ihre Aussage.

(4 BE)

2.4 In einem weiteren Versuch wurde die Wirkung von Katalase auf Wasserstoffperoxid genauer untersucht.

2.4.1 Damit zwei Moleküle A und B zu AB werden, müssen folgende Voraussetzungen gegeben sein: A und B müssen vorhanden sein. A und B müssen zusammenstoßen und beim Zusammenstoß muss die für die Reaktion notwendige Aktivierungsenergie vorhanden sein. Begründen Sie mithilfe dieser Voraussetzungen die Aussage „Enzym- und Substratkonzentration bestimmen die Reaktionsgeschwindigkeit".

(6 BE)

2.4.2 Setzen Sie die Werte aus der Tabelle (Material 6) in eine Grafik um und beschreiben Sie diese. Erläutern Sie auch die Folgen, die eine weitere starke Erhöhung der Substratkonzentration hätte.

(12 BE)

2.4.3 Material 7 gibt die Michaelis-Menten-Konstanten (K_M) für die Enzyme Katalase und Pyruvat-Carboxylase an.
Geben Sie eine Definition für K_M an und zeigen Sie die Aussagen auf, die mithilfe der K_M aus der Tabelle hinsichtlich der enzymkatalysierten Reaktionen getroffen werden können.

(8 BE)

Material 1

DNA-Replikation

„Die DNA erfüllt zwei wesentliche Funktionen. Die Verdopplung der genetischen Information vor jeder Zellteilung wird durch die konservative Replikation erfüllt: Eine Helikase trennt die DNA-Doppelstränge über eine Strecke von 20 Basenpaaren. An die freien Basen eines der beiden Stränge lagern sich kompensatorische Nukleotide an, die durch DNA-Ligase zu einem DNA-Strang verknüpft werden. Der neu synthetisierte DNA-Strang wird durch DNA-Replikase zu einem Doppelstrang ergänzt.“

geändert nach: https://docplayer.org/34554581-Aufgabe-1-bakterien-als-untersuchungsgegenstand.html (abgerufen am 13.07.2021).

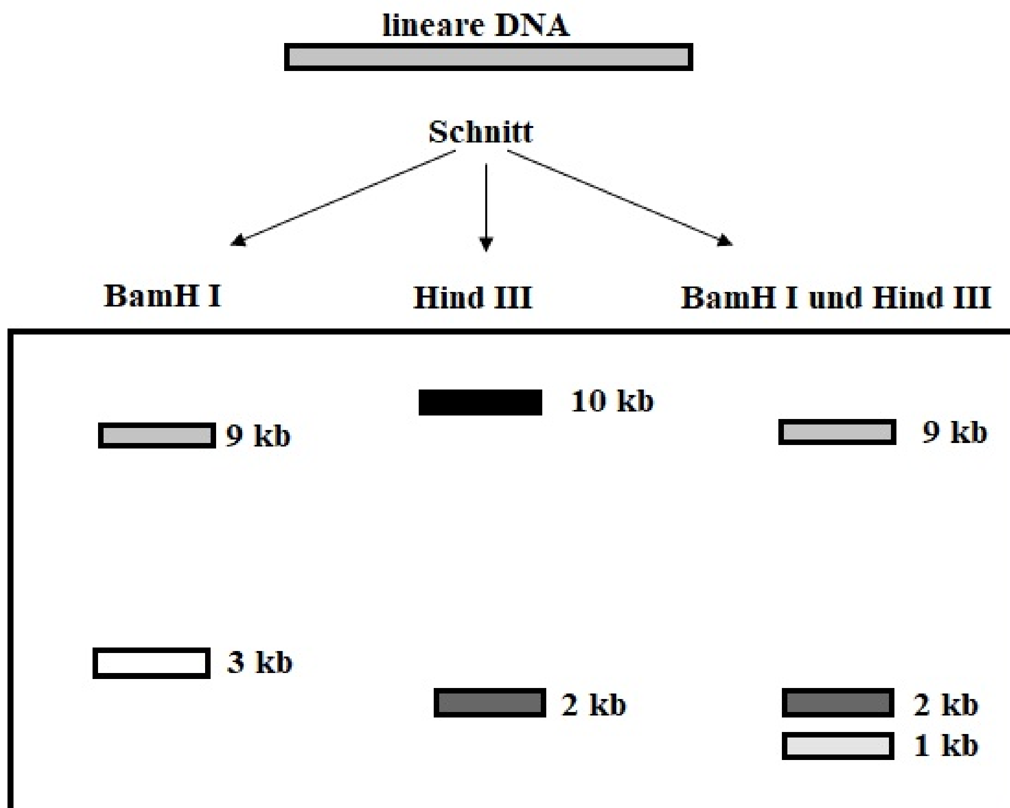
Material 2

DNA-Sequenz

5´ -ACTGACGGATCCCTGGTCCA- 3´

Material 3

Restriktionskartierung

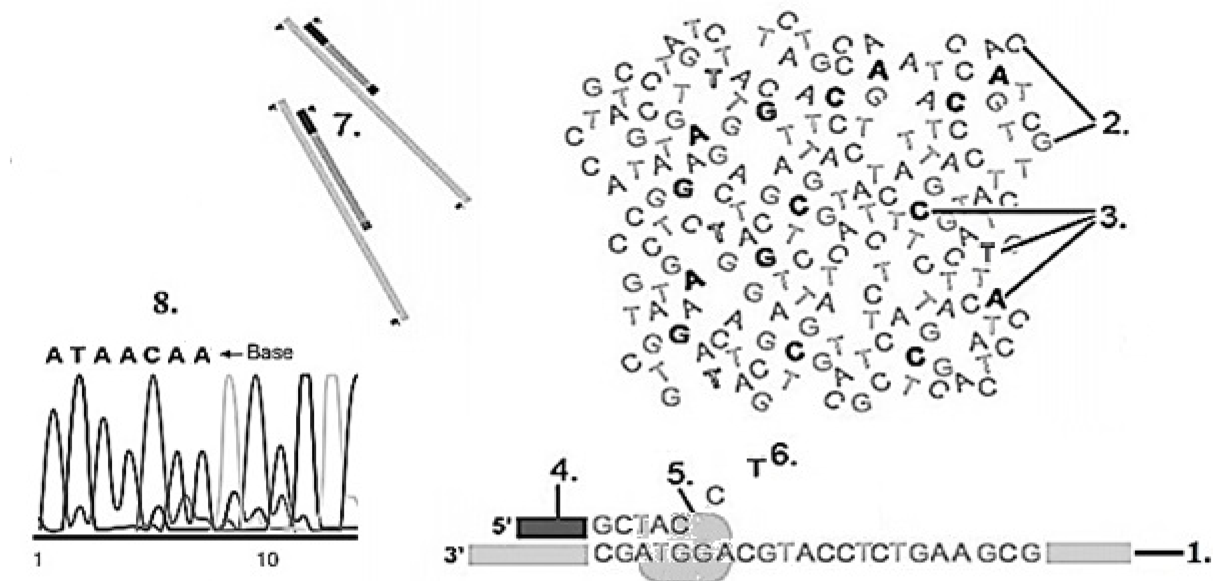


geändert nach: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/de/1/19/Restriktionskarte.png (abgerufen am 14.07.2021).

Material 4

Sequenzierung

Abb. 4.1 Sequenzanalyse



geändert nach: https://asset.klett.de/assets/4223651b/DNA-Sequenzanalyse.pdf (abgerufen am 13.07.2021).

Hinweis: Die grau gedruckten Buchstaben entsprechen dem in Abbildung 4.2 dargestellten Molekül, die schwarz gedruckten Buchstaben dem in Abbildung 4.3.

Abb. 4.2 Desoxy-Adenosin-Triphosphat

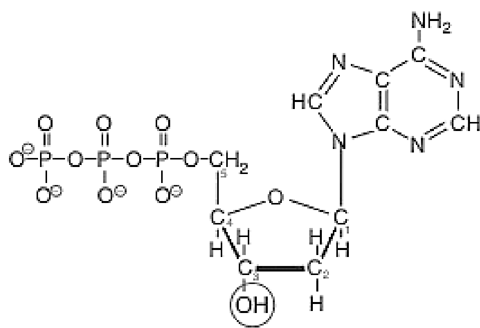
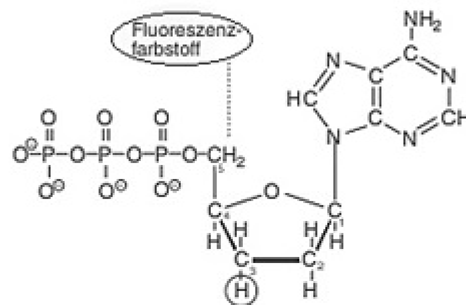


Abb. 4.3 Didesoxy-Adenosin-Triphosphat



geändert nach: https://asset.klett.de/assets/4223651b/DNA-Sequenzanalyse.pdf (abgerufen am 13.07.2021).

Hinweis: Es gibt vier verschiedene Didesoxynukleotide, die jeweils mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert werden.

Material 5

Versuche mit Wasserstoffperoxid

In Vorratsbehältern kann man eine wässrige Lösung von Wasserstoffperoxid bei Raumtemperatur monatelang aufbewahren.
1. Erhitzt man eine Wasserstoffperoxidlösung, so zerfällt H_2O_2 in Sauerstoff und Wasser; dabei wird Energie freigesetzt. Die Reaktionsgleichung lautet: $2\ H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2\ H_2O$.
2. Dieselbe Reaktion läuft auch bei Raumtemperatur ab, wenn man zur Wasserstoffperoxidlösung eine Messerspitze Braunstein (MnO_2) zugibt. Braunstein liegt nach der Reaktion unverändert vor.
3. Übergießt man zerkleinertes Lebergewebe (Katalasepräparat) bei Raumtemperatur mit Wasserstoffperoxidlösung, so zerfällt das Wasserstoffperoxid unter starkem Aufschäumen.

Material 6

Katalaseaktivität in Abhängigkeit von der H_2O_2-Konzentration

g H_2O_2 pro 100 ml Reaktionslösung	ml O_2-Entwicklung in 5 min
1	3,1
2	4,9
3	6,0
4	6,8
5	7,3
6	7,8
7	8,1
8	8,2
9	8,2

geändert nach: Andrea Becker et. al.: Natura Biologie für Gymnasien, Stuttgart 2012, S. 63.

Material 7

K_M-Werte zweier Enzyme

Enzym	Substrat	K_M (µM)
Katalase	H_2O_2	25 000
Pyruvat-Carboxylase	HCO_3^- Pyruvat ATP	1 000 400 60

geändert nach: https://www.chids.de/dachs/wiss_hausarbeiten/BiochemieBiotechnologie_Weide.pdf (abgerufen am 20.09.2021).